

## 蛔虫卵の培養方法に対する検討

附, 滅菌斜面寒天培地と他培地との比較

小津 茂弘

埼玉県衛生研究所

(昭和36年1月11日受領)

特別掲載

### 緒言

蛔虫卵の発育に関する諸条件, 虫卵の抵抗性, 形態学的の研究を行う際には, 蛔虫卵の培養による観察が不可欠の要素であり, 時に生死判定を要する場合には, 染色法等による判定方法が未だ研究の域を出ない現在では, 培養による長期間の発育状況の観察に由らなければならぬのは止むを得ないと云うのが現況である。

培養法については Davaine (1862), Halley (1885), 我国でも長谷川 (1908), 富永 (1914) 以来多数の研究者が蛔虫卵の発育を観察する為に種々の方法を考案している。

蛔虫卵発育と培地との関係については, 最近では中川 (1931), 和泉 (1952) 等の研究があり, 何れも濾紙, 瓦, 素焼皿, 砂, 獣炭末等を用い, 湿潤液としては水又はホルマリン水を用いての観察, および試験管内に培養液として水, ホルマリン水, リンゲル氏液等を入れて虫卵の発育を観察する等して, 比較検討を行つている。しかし従来から用いられている各法は, 移動その他取扱いが頗る不便であり, 又時としては同じ方法を用いても蛔虫卵の発育がまちまちになることもある。

小宮等 (1956) はその点を考慮して取扱いに便利な1%ホルマリン加3%寒天平板培地を作製し, 蛔虫卵の発育状況を観察して従来の方法と比較検討を行い良好な結果を得ている。北条 (1958) はホールグラスに小宮等の処方ホルマリン加寒天を凝固させて蛔虫卵を塗布し, カバーグラスで封じて, 同一虫卵による長期観察が可能な方法を発表した。

蛔虫卵は培地の如何ではすぐに発育能に影響をおよぼすことがあるので, 著者は多数の検体を取り扱う実験に便利な様に, 滅菌斜面寒天培地を作製し従来の方法と比較して, よい成績が得られたので, 虫卵の抵抗試験等の場合に使用している。茲に蛔虫卵発育と培地との再検討

と併せて報告する。

### 材料と方法

斜面寒天培地は, 蒸留水に粉末寒天を3%の割合に混じたものを加熱溶解せしめ, 予め滅菌した小試験管(内径10mm, 長さ100mm)に3cc宛分注し, 直ちに綿栓を施して斜面となし, 自然に冷却凝固するのを待つて使用に供した。

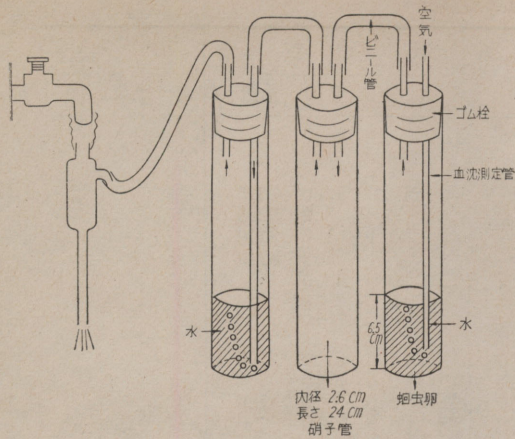
素焼皿培地は, 滅菌した素焼皿(内径60mm, 高さ10mm)を直ちに滅菌シャーレ(内径90mm, 高さ20mm)内に入れて, 周囲に湿潤液として水道水, 蒸留水, 0.5%, 1%, 2%, 4%各濃度のホルマリン水を夫々注加して, 蓋をして使用に供した。

濾紙培地は, 小試験管(内径10mm, 長さ100mm)に幅7mm, 長さ120mmに切つた東洋濾紙2号を斜めにして入れ, 試験管に水深1cmになる様にピペットで水道水, 蒸留水, 0.5%, 1%, 2%, 4%各濃度のホルマリン水を夫々注入して, 直ちに綿栓を施して使用に供した。

試験管内液浸培地は, 滅菌小試験管(内径10mm, 長さ100mm)に水深1cmになる様にピペットで水道水, 蒸留水, 0.5%, 1%, 2%, 4%各濃度のホルマリン水を夫々注入して, 直ちに綿栓を施して使用した。

空気送入試験管内液浸培地は第1図にみられる様な装置を作り使用に供した。

本試験における蛔虫卵は, 凡て屠場より採取した新鮮な豚蛔虫雌虫の子宮下部1.5cm内卵を材料として用い, 虫卵を試験に供する際には試験管に数十四分の子宮を集め, 水を混じて十分に竹棒で攪拌して子宮内卵を押し出し, ガーゼ1枚で濾過して子宮壁等の残渣を除去したものをよく攪拌して, 白金耳で斜面寒天培地, 濾紙培地, 素焼皿培地の表面に夫々充分に塗布し, 液浸培地では試験管内の培養液中に蛔虫卵を混入した。



第1図 空気送入装置による細菌卵培地

細菌卵の發育能についての比較試験は、滅菌斜面寒天培地、水道水、蒸留水、前記4通りの濃度のホルマリン水による湿潤濾紙培地、および素焼皿培地、水道水、蒸留水、前記各濃度のホルマリン水による試験管内液浸培地、特に水道水の場合は空気送入による培養方法、並びに水道水、蒸留水の連日交換試験管内液浸培地の計22種

類の方法について検討した。

各培地共に同種類のを3本宛準備し、同時培養を開始して何れも30°C孵卵器(温度誤差±0.5°C)内培養を行つた。

細菌卵發育状況の観察は、培養開始後3日目、5日目、7日目、10日目、15日目、20日目、30日目に行い、各發育程度の百分比で比較を行つた。この観察は各培地から白金耳で細菌卵を採り、予めスライドガラス上に置いたI滴の水とよく混ぜ合せカバーガラス(18×18mm)をのせて鏡検した。以上の方法で各培地共に100コ宛3本、計300コの虫卵を算えて、細菌卵の發育程度および変性卵を観察して分類を行つてみた。

実験成績

30°C孵卵器内で培養した3日目の各培地の發育状況は第1表にみられる様に、斜面寒天培地では68%が分裂後期(4細胞期と数細胞期を総称する。以下同様)、18%が分裂前期(2細胞期と3細胞期を総称する。以下同様)、12%が単細胞期であつた。濾紙培地、ホルマリン水湿潤では各濃度共に80~90%が分裂後期まで發育しており、蒸留水湿潤では28%が分裂後期、48%が分裂前期、

第1表 30°C 培養3日目の比較

培地種別	観察細菌卵数百分比							
	変	不	単	2	3	4	分	桑前 桑後 蝸前 蝸後 仔
斜面寒天培地	2.0		12.0	12.0	6.0	40.0	28.0	
濾紙培地								
0.5%ホルマリン水	1.8	1.8	1.8		1.8	63.6	29.1	
1%ホルマリン水	3.4	3.4			1.2	71.6	20.3	
2%ホルマリン水	3.8	2.8			3.5	68.7	21.1	
4%ホルマリン水	2.9	2.9			2.9	69.5	21.9	
蒸留水	4.0		20.0	30.0	18.0	16.0	12.0	
水道水	10.3	5.0	14.3	52.3	11.0	5.7	1.3	
素焼皿培地								
0.5%ホルマリン水	4.0	8.0	12.0	12.0	16.0	36.0	12.0	
1%ホルマリン水	4.0	4.0	6.0	12.0	26.0	32.0	16.0	
2%ホルマリン水	2.0	8.0	10.0	12.0	24.0	34.0	10.0	
4%ホルマリン水	4.0	6.0	12.0	20.0	14.0	34.0	10.0	
蒸留水	6.0		7.0	25.0	23.0	30.0	9.0	
水道水	9.3		16.7	59.3	6.3	6.7	1.7	
液浸培地								
0.5%ホルマリン水	2.5		1.2	3.7	3.7	67.8	21.1	
1%ホルマリン水	4.9		1.2	2.4		70.5	21.0	
2%ホルマリン水	2.2	18.2	0.7	0.7	0.7	54.4	22.2	0.8
4%ホルマリン水	5.3					72.3	20.4	1.0
蒸溜水(1)	6.3	1.6	90.1	0.5			1.6	
同上(2)	6.6	1.9	82.5	0.9	0.5	1.4	6.1	
水道水(1)	8.3	3.0	83.5	0.4	0.4	0.4	3.9	
同上(2)	8.0	1.1	84.7	0.7		1.8	3.6	
同上(3)	3.5		76.0	12.5	8.0			

蒸留水及び水道水の(1)連日交換 (2)放置 (3)空気送入せるもの、以下各表共通

第2表 30°C 培養5日目の比較

培地種別	観察 蛹 虫 卵 数 百 分 比											
	変	不	単	2	3	4	分	桑前	桑後	蛹前	蛹後	仔
斜面寒天培地	2.0							36.7	54.3	5.0	1.0	
濾紙培地												
0.5%ホルマリン水	10.0							12.0	78.0			
1%ホルマリン水	9.5	3.2						3.2	82.5	1.6		
2%ホルマリン水	6.8	3.4					5.1	1.7	83.0			
4%ホルマリン水	8.3							1.2	82.6			
蒸溜水	4.0	3.3	8.0	8.0	4.7	10.0	20.0	42.0				
水道水	15.5		1.7	0.3			3.7	78.8				
素焼皿培地												
0.5%ホルマリン水	4.0	6.0		8.0	2.0	10.0	14.0	22.0	34.0			
1%ホルマリン水	3.0	3.0	1.0		3.0	10.0	9.0	32.0	39.0			
2%ホルマリン水	5.0	1.0			1.0	2.0	12.0	32.0	47.0			
4%ホルマリン水	4.0	6.0		6.0	8.0	8.0	8.0	28.0	32.0			
蒸溜水	8.0	1.0	1.0	8.0	4.0	12.0	18.0	48.0				
水道水	13.7		3.3	0.3			3.3	79.4				
液浸培地												
0.5%ホルマリン水	5.0						3.0	7.0	85.0			
1%ホルマリン水	6.0	3.0				1.0	3.0	2.0	85.0			
2%ホルマリン水	5.0	5.0					17.0	2.0	71.0			
4%ホルマリン水	13.8	0.9					0.9	1.8	82.6			
蒸溜水(1)	6.0	1.0	48.0	22.0	5.0	18.0						
同上(2)	5.0	4.4	65.0	20.0		1.2	4.4					
水道水(1)	9.3	5.3	62.1	11.0	1.3	2.7	8.3					
同上(2)	15.0	4.4	67.0	2.0	1.0	3.6	5.0	2.0				
同上(3)	1.5		5.0	17.5	10.0	13.5	45.5	3.5				

水道水湿潤では7%が分裂後期, 63%が分裂前期, 14%が単細胞期であった。素焼皿培地のホルマリン水湿潤では各濃度共に44~48%が分裂後期, 28~34%が分裂前期6~12%が単細胞期であり, 蒸溜水湿潤では39%分裂後期, 48%が分裂前期, 20%が単細胞期であり, 水道水湿潤は8%が分裂後期, 65%が分裂前期, 17%が単細胞期であった。液浸培地のホルマリン水では各濃度共に80~90%が分裂後期に發育していたが, 水道水および蒸溜水では放置せるものも, 連日交換したのも82~90%はまだ単細胞期のままであった。空気送入の場合は16~25%が分裂前期, 75~80%が単細胞期であった。又変性卵は各培地共少なく2~8%の出現であった。

培養5日目の成績は, 第2表にみられる様に斜面寒天培地では6%が蛹期, 91%が桑実期に發育していた。濾紙培地のホルマリン湿潤のものでは各濃度共に82~92%が桑実期であり, 蒸溜水湿潤では42%が桑実期, 30%が分裂後期, 12%が分裂前期であり, 水道水湿潤では79%が桑実期であった。素焼皿培地のホルマリン湿潤では1%又は2%の濃度のものが少し發育が早い, 各濃度共60~80%が桑実期で残りは主に分裂後期であった。蒸溜水湿潤では48%が桑実期, 30%が分裂後期, 12%が分

裂前期で, 水道水湿潤では79%が桑実期であった。液浸培地のホルマリン水では各濃度共に73~87%が桑実期であり, 蒸溜水および水道水では放置せるものも, 連日交換したのもまだ48~67%が単細胞期で, 28~45%が分裂期であった。空気送入の場合は35~54%が分裂後期, 28~30%が分裂前期であった。変性卵は斜面寒天培地で2%, 他は5~15%であり, 特に水道水使用の場合は13~15%に増加していた。

培養7日目の成績は, 第3表にみられる様に斜面寒天培地では95%が仔虫期になっていた。濾紙培地ではホルマリン湿潤1%濃度のものは92%が蛹期に, 他の濃度では41~58%が蛹期で, 40~50%は桑実期であり, 水道水および蒸溜水湿潤では67~70%が桑実期であった。素焼皿培地のホルマリン湿潤では各濃度共に16~28%が蛹期, 60~77%が桑実期であり, 水道水湿潤では23%が蛹期に, 68%が桑実期になり, 蒸溜水湿潤では74%が桑実期, 10%が分裂後期であった。

液浸培地のホルマリン湿潤のものでは各濃度共に46~60%が蛹期, 32~41%が桑実期であり, 蒸溜水は放置せるものも, 連日交換せるものも12%は桑実期, 22~30%が分裂後期, 28~32%が分裂前期で, 21~28%が単細胞

第3表 30°C 培養7日目の比較

培地種別	観察 蛹 虫 卵 数 百 分 比											
	変	不	単	2	3	4	分	桑前	桑後	蛹前	蛹後	仔
斜面寒天培地	1.0											99.5
濾紙培地												
0.5%ホルマリン水	10.0	4.0							40.0	38.0	6.0	
1%ホルマリン水		6.0								56.0	36.0	2.0
2%ホルマリン水	8.0	6.0							26.0	32.0	26.0	2.0
4%ホルマリン水	5.1	3.7							50.0	24.5	10.7	
蒸溜水	2.0		3.3	13.0	3.0		12.0	18.0	48.7			
水道水	17.8		1.0	0.3		0.3		1.6	69.0	10.0		
素糖皿培地												
0.5%ホルマリン水	10.7						1.4		60.0	18.6	9.3	
1%ホルマリン水	1.0			2.0	2.0	1.0	3.0	3.0	72.0	13.0	3.0	
2%ホルマリン水	4.0			1.0			1.0		77.0	15.0	2.0	
4%ホルマリン水	3.0	1.0		2.0	1.0		5.0	4.0	68.0	11.0	5.0	
蒸溜水	10.0			3.0	3.0		10.0	12.0	62.0			
水道水	13.6		0.3	0.3					62.5	15.2	8.0	
液浸培地												
0.5%ホルマリン水	4.0	5.0							30.0	26.0	34.0	
1%ホルマリン水	6.0	8.0							32.0	24.0	30.0	
2%ホルマリン水	7.0	5.0						2.0	35.0	29.0	22.0	
4%ホルマリン水	12.0	1.0						7.0	34.0	28.0	18.0	
蒸溜水(1)	6.0		21.0	26.0	6.0	16.0	14.0	12.0				
同上(2)	8.0	2.0	28.0	28.0		10.0	12.0	12.0				
水道水(1)	3.0	3.0	47.0	20.0	8.0	9.0	10.0					
同上(2)	6.0		60.0	18.0	1.0	6.0	9.0					
同上(3)	2.0							7.0	85.0	6.0		

第4表 30°C 培養10日目の比較

培地種別	観察 蛹 虫 卵 数 百 分 比											
	変	不	単	2	3	4	分	桑前	桑後	蛹前	蛹後	仔
斜面寒天培地	1.0											99.0
濾紙培地												
0.5%ホルマリン水	6.0	2.0								6.0	8.0	78.0
1%ホルマリン水	4.0											96.0
2%ホルマリン水	6.0	4.0						1.0	4.0			85.0
4%ホルマリン水	5.0	3.0									3.0	89.0
蒸溜水	6.0									10.0	69.0	15.0
水道水	8.8	7.1								0.3		81.1
素糖皿培地												
0.5%ホルマリン水	10.0			1.0		1.0			19.0	12.0	34.0	23.0
1%ホルマリン水	3.0	2.0					1.0	2.0	25.0	8.0	37.0	22.0
2%ホルマリン水	4.0			1.0					34.5	16.0	30.5	14.0
4%ホルマリン水	3.0	2.0						8.0	42.0	10.0	21.0	12.0
蒸溜水	4.0	3.0						4.0		14.0	65.0	10.0
水道水	9.1	9.1	0.3	0.7						0.3		80.5
液浸培地												
0.5%ホルマリン水	3.0	4.0										7.0
1%ホルマリン水	2.0									1.0	2.0	95.0
2%ホルマリン水	7.0										5.0	88.0
4%ホルマリン水	3.0	2.0						1.0		4.0		90.0
蒸溜水(1)	9.0		10.0	3.0	2.0	5.0	20.0	18.0	21.0	12.0		
同上(2)	8.0	7.0	18.0	12.0	3.0	7.0	8.0	20.0	17.0			
水道水(1)	10.0	4.5	20.0			12.0	24.0	20.0	8.0			1.0
同上(2)	10.0	6.0	20.0	1.0	1.0	5.0	30.0		27.0			
同上(3)	3.0									18.5	58.0	20.5

期であり、水道水使用のは12~18%分裂後期, 19~28%が分裂前期で, 47~60%はまだ単細胞期であつた。空気送入の場合は92%が桑実期であつた。又変性卵は4~18%で5日目の状態とほとんど同様であつた。

培養10日目の成績は、第4表にみられる様に斜面寒天培地では完全に仔虫期に達し、濾紙培地のホルマリン湿潤では各濃度共78~96%が仔虫期に、蒸溜水湿潤では15%が仔虫期, 79%が蛸蚪期になり、水道水湿潤では81%が仔虫期であつた。素焼皿培地のホルマリン湿潤では各濃度共12~23%が仔虫期, 31~47%が蛸蚪期, 19~50%が桑実期であり、蒸溜水湿潤では10%が仔虫期, 79%が蛸蚪期であり、水道水湿潤では81%が仔虫期であつた。液浸培地のホルマリン水では各濃度共86~95%が仔虫期になつており、蒸溜水では放置のものは37%が桑実期, 15%が分裂後期, 15%が分裂前期, 18%はまだ単細胞期であり、連日交換せるものは放置のものよりも発育がよくて12%が蛸蚪期, 39%が桑実期, 25%が分裂後期, 5%が分裂前期, 10%が単細胞期であり、水道水は放置のものも連日交換のものも共に28%が桑実期, 35%が分裂後期, 20%は単細胞期であつた。空気送入では15~20%が仔虫期, 76~80%が蛸蚪期であつた。変性卵は5~15%

で特に増加は認められない。

培養15日目の成績は、第5表にみられる様に斜面寒天培地、濾紙培地はほとんど完全に仔虫期に達しており、素焼皿培地のホルマリン湿潤では4%濃度が少し発育が遅れて27%が仔虫期, 56%が蛸蚪期であり、他の濃度では57~62%が仔虫期, 32~34%が桑実期であり、水道水および蒸溜水湿潤では81~90%が仔虫期に達していた。液浸培地のホルマリン水では各濃度共に91%以上が仔虫期に発育しており、蒸溜水では連日交換のものは56%が仔虫期, 36%が蛸蚪期であり、放置のものは26%が蛸蚪期, 31%が桑実期, 14%が分裂後期, 11%が分裂前期, 14%はまだ単細胞期であり、水道水では連日交換せるもので3%が仔虫期, 16%が蛸蚪期, 36%が桑実期, 20%が分裂後期, 12%が分裂前期, 10%が単細胞期であり、放置のものでは10%が蛸蚪期, 31%が桑実期, 25%が分裂後期, 14%が分裂前期, 18%が単細胞期であつた。空気送入では95%が仔虫期に達していた。又変性卵は3~17%であり今迄の観察と同様であつた。

培養20日目の成績は、第6表にみられる通りで、素焼皿培地のホルマリン湿潤では75~87%が仔虫期, 10~22%が桑実, 蛸蚪期として残つていた。液浸培地では蒸溜

第5表 30°C 培養15日目の比較

培地種別	観 察 蛸 虫 卵 数 百 分 比																					
	変	不	単	2	3	4	分	桑前	桑後	蛸前	蛸後	仔										
斜面寒天培地	1.0											99.0										
濾紙培地	0.5%ホルマリン水											8.0	92.0									
	1%ホルマリン水											5.0	95.0									
	2%ホルマリン水											2.0	4.6	1.3	92.0							
	4%ホルマリン水											1.0	5.0		94.0							
蒸溜水	6.0													8.0	86.0							
水道水	10.9											4.4	0.3		1.3	83.1						
素焼皿培地	0.5%ホルマリン水											5.0	2.0		1.0		1.0	5.0	28.0	57.0		
	1%ホルマリン水											3.0		2.0		1.0			7.0	25.0	62.0	
	2%ホルマリン水											2.0	1.0	3.0	1.0				4.0	30.0	58.0	
	4%ホルマリン水											5.0	1.0	2.0		1.0	1.0	3.0	4.0	13.0	43.0	27.0
蒸溜水	6.0																			8.0	86.0	
水道水	11.4											6.3	0.7						0.6		81.0	
液浸培地	0.5%ホルマリン水											5.0	1.0									94.0
	1%ホルマリン水											3.0									1.0	96.0
	2%ホルマリン水											6.0	2.0								3.0	89.0
	4%ホルマリン水											3.0	2.0								2.0	91.0
蒸溜水(1)	2.0																	1.0	1.0	2.0	30.0	56.0
同上(2)	4.0												14.0	11.0		5.0	9.0	9.0	22.0	26.0		
水道水(1)	3.0												10.0	9.0	3.0	8.0	12.0	15.0	21.0	6.0	10.0	3.0
同上(2)	2.0												18.0	12.0	2.0	5.0	20.0	13.0	18.0	10.0		95.5
同上(3)	4.5																					

第6表 30°C 培養20日目の比較

培地種別	観 察 蛹 虫 卵 数 百 分 比											
	変	不	単	2	3	4	分	桑前	桑後	蛹前	蛹後	仔
斜面寒天培地	1.0											99.0
濾紙培地												
0.5%ホルマリン水	6.0											94.0
1%ホルマリン水	5.0											95.0
2%ホルマリン水	4.0	2.0										94.0
4%ホルマリン水	4.0	3.0										93.0
蒸溜水	8.0											92.0
水道水	9.0	2.0										89.0
素焼皿培地												
0.5%ホルマリン水	4.0								4.0	3.0	9.0	80.0
1%ホルマリン水	3.0								2.0		8.0	87.0
2%ホルマリン水	2.0							1.0	9.0		9.0	79.0
4%ホルマリン水	3.0							2.0	10.0	3.0	7.0	75.0
蒸溜水	6.0											94.0
水道水	9.0											91.0
液浸培地												
0.5%ホルマリン水	6.0											94.0
1%ホルマリン水	4.0											96.0
2%ホルマリン水	6.0	1.0										93.0
4%ホルマリン水	6.0	2.0										92.0
蒸溜水(1)	5.0								2.0		5.0	88.0
同上(2)	7.0			2.0	1.0	2.0	5.0	10.0	10.0	20.0	7.0	36.0
水道水(1)	4.0	2.0								5.0	6.0	74.0
同上(2)	7.0	3.0	3.0	11.0	3.0	3.5	10.0	7.5	4.0	1.0	3.0	42.0
同上(3)	5.0											95.0

第7表 30°C 培養30日目の比較

培地種別	観 察 蛹 虫 卵 数 百 分 比											
	変	不	単	2	3	4	分	桑前	桑後	蛹前	蛹後	仔
斜面寒天培地	1.0											99.0
濾紙培地												
0.5%ホルマリン水	6.0											94.0
1%ホルマリン水	4.0											96.0
2%ホルマリン水	5.0											95.0
4%ホルマリン水	3.0											97.0
蒸溜水	7.0											93.0
水道水	10.0											90.0
素焼皿培地												
0.5%ホルマリン水	5.0	1.0										94.0
1%ホルマリン水	3.0	2.0										95.0
2%ホルマリン水	4.0	3.0										93.0
4%ホルマリン水	4.0	2.0									4.0	90.0
蒸溜水	6.0											94.0
水道水	6.0											94.0
液浸培地												
0.5%ホルマリン水	6.0											94.0
1%ホルマリン水	5.0											95.0
2%ホルマリン水	6.0											94.0
4%ホルマリン水	6.0											94.0
蒸溜水(1)	2.0											95.0
同上(2)	1.0								8.0		9.0	82.0
水道水(1)	2.0								5.0		5.0	88.0
同上(2)	2.0								3.0	4.0	10.0	81.0
同上(3)	3.0											97.0

水の連日交換せるものは88%が仔虫期に、放置せるものは36%が仔虫期、27%が蛭蚪期、20%が桑実期、10%が分裂各期となつており、水道水では連日交換せるものは74%が仔虫期、15%が蛭蚪期、5%が桑実期であり、放置せるものは42%が仔虫期、4%が蛭蚪期、11%が桑実期、15%が分裂後期、14%が分裂前期、3%はまだ単細胞期であつた。

培養30日目の成績は、第7表にみられる様に、何れの培地でもほとんどが仔虫期に達しており、僅かに液浸培地の水道水および蒸留水では10~17%がまだ蛭蚪期および桑実期として残っている程度であり、これも培養35日目に観察した時には完全に仔虫期に達していた。

討 議

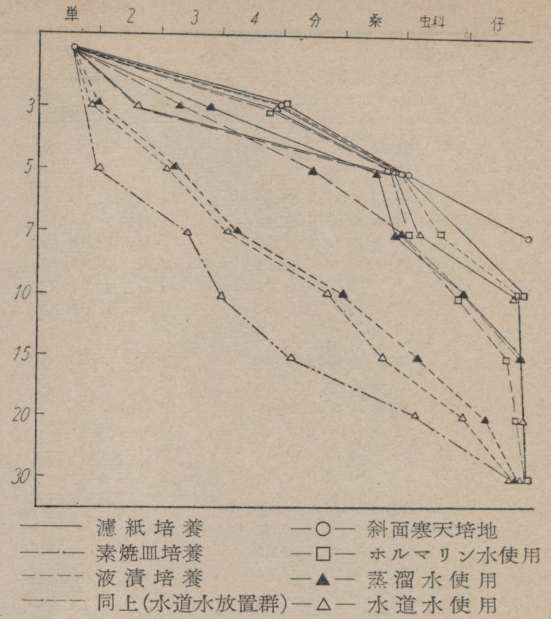
蛔虫卵の実験を行うには、虫卵培養は極めて重要な意義を有している。しかし例え同一条件で同一温度で同一の虫卵材料を用いて培養試験を行つても、培養方法が異なるとその発育状況は必ずしも一致しないのみならず、時には全然異なつた結果となることもある。

蛔虫卵の発育能を百分率で検討を行う際には、どの様な方法が常に一番安定した成績が得られ、しかも取扱いが便利であるかと云う点で検討を行つた。

和泉等(1952)は2%ホルマリン水を用いた場合には瓦、素焼皿、濾紙、砂粒等を湿潤させた場合の蛔虫卵の発育は大体同様であり、硝子の試験管培養は初期は他に勝っているが、日を経るに従つて発育が劣つてくると云う。又小宮ら(1956)は1%ホルマリン加寒天平板培地は従来の代表的培地である素焼皿、濾紙培地に劣らずに蛔虫卵の発育は良好であると云う。

著者は従来から行われている濾紙培地、素焼皿培地、試験管内液浸培地に夫々0.5%、1%、2%、4%ホルマリン水、水道水、蒸留水を使用したもの、空気送入れた水道水、それと3%滅菌斜面寒天培地とに豚蛔虫卵を塗布して30°C孵卵器内で培養を行い、その発育の差を比較検討したが、この場合の培地別に発育曲線を作ると第2図にみられる様に、斜面寒天培地は極めて順調に発育を完了し、培養7日目で95%が仔虫期となり、8日目にはすべて発育完了していたので、ほとんど直線的な発育曲線を示していた。之は3%滅菌斜面寒天では細菌やカビ等の影響を受けることもなく、蛔虫卵発育に必要な適当な湿潤状態と酸素の供給が均等に行きわたる為に、一様に揃つて発育するものと考えられる。

濾紙培地では0.5%、1%、2%、4%の各濃度のホルマリン水湿潤並びに水道水湿潤のもの間にはほとん



第2図 培地別の蛔虫卵発育曲線

どその発育状況に差を認められないが、桑実期以降の発育が斜面寒天培地よりもおくれ、7日目ではまだ蛭蚪期および桑実期であり、10日目では80%以上が仔虫期になる。蒸留水湿潤は発育がまばらになり、10日目でも仔虫期には15%しか達せず、15日目でもやつと80%以上が仔虫期になると云う状況である。

素焼皿培地は濾紙培地よりも更に発育がおくれ、而も発育状況がまばらとなり15日目でも過半数が仔虫期に達する程度であり、80%以上が仔虫期に達するには20日位かかる。ホルマリン水は濃度差による虫卵の発育状態は著明には現れないが、僅かに4%の濃度のものが発育がおそくなる傾向があつた。

試験管内液浸培地も各濃度ホルマリン水の間には、発育差は認められずに10日目で大部分が仔虫期に達した。水道水および蒸留水では発育開始がおそく、最初からばらばらの発育過程が観察され、15日目頃からやつと1部が仔虫期に達し、大部分が仔虫期に達するには30日かかる。空気送入れた場合には放置のものよりもかなり早く発育し、しかも発育過程もまとまつて来て、ほとんど15日目で大部分が仔虫期に達した。

蛔虫卵の培養には斜面寒天培養が一番成績がよく、続いて濾紙培養がよいと思われる。ホルマリン水使用の各濃度間ではほとんど差を認めることが出来ないから普通用いられてい1~2%の濃度で濾紙培地、素焼皿培地、

液浸培地何れの場合もよいのではないかと思う。水道水や蒸留水で液浸培養を行うと、発育が遅く且まばらの発育を示すから、空気送入手法で行った方が成績がよくなると思う。

### 要 約

蛔虫卵の培養には従来から種々の方法が考案されているが、著者は3%滅菌斜面寒天培地を使用し、濾紙培地、素焼皿培地、試験管内液浸培地と蛔虫卵の発育状況を比較検討して良好な結果を得た。

斜面寒天培地は取扱いが便利であり、滅菌してあるので、細菌やカビ等の影響を受けることもなく、蛔虫卵の発育に必要な湿潤状態と酸素は充分に供給されるので、常に発育が順調であり、30°C孵卵器内培養では3日目で86%が分裂期、5日目で90%が桑実期、7日目で94%が仔虫期となり、8日目には完全にすべて仔虫期に達する。

濾紙培地は7日目ではまだ蛹蛻期で、10日目で80%以上が仔虫期に達する。

素焼皿培地は80%以上が仔虫期に達するには20日位かかり、幾分発育過程がまばらになる傾向が認められる。

使用するホルマリン水は0.5%、1%、2%、4%の各濃度間には発育におよぼす差はほとんど認められない。

水道水および蒸留水はホルマリン水使用の場合よりも発育が悪いことが多く、何れの培養法でも比較的発育がまばらになり易い。

液浸培地はホルマリン水使用の場合は15日で仔虫期に達する。水道水又は蒸留水使用の場合は約30日を要して大部分が仔虫期に達するが、途中の発育状態は極めてまばらであり、ほとんど各期卵が20日過ぎまで観察される。但しこの場合に空気送入手法で培養を行うと発育もまとまり、大体15日目で仔虫期に達する。

擧筆するに当り、種々御教示を頂いた分島整所長、子研石崎達博士に感謝いたします。

### 参 考 文 献

- 1) 北条昌中(1956) : Hohlglass 寒天培地法による同一蛔虫卵の継続的観察の一方法, 医学と生物学, 42(2), 69-72
- 2) 石井信太郎(1953) : 寄生虫, 原虫, 昆虫検査法, 医学書院, I 版, 東京.
- 3) 小宮義孝・小林昭夫(1956) : ホルマリン加寒天培地による蛔虫卵培養法の検討, 日本公衆衛生雑誌 3(4), 189-193.
- 4) Lossev, L. (1934) : The dehelminthization of the surrounding medium in Ascariidosis. Med. Par. & par., Dis. 3-185.
- 5) 宮川米次(1956) : 最新臨床寄生虫病学, 蠕虫性疾患 II. 中外医学社, I 版, 東京
- 6) 森下薫(1952) : 蛔虫及び蛔虫症, 永井書店, 増補 II 版, 京都.
- 7) Izumi S. & S. Nakamura (1952) : Biologica l studies on ascaris egg. I. Comparative study of various culture methodes of Ascariidsegs. Japanese Medical Journal, 5(1), 7-12
- 8) 横川定・横川宗雄(1957) : 寄生虫研究の実際, 杏林書院, II 版, 東京.



STUDY ON THE METHOD FOR CULTURING THE ASCARIS EGGS  
WITH SPECIAL REFERENCE TO A COMPARISON OF  
THE SLANT AGAR MEDIUM WITH  
OTHER CULTURE MEDIUM

SHIGEHIRO OHZU

*(Saitama Prefectural Institute of Public Health, Ohmiya, Japan)*

As to the method for culturing the ascaris eggs, various methods have been conceived. In the present paper, sterilized slant agar contained 3% of agar is newly devised as a culture ground, and the growth of the eggs in which was compared with those obtained by using filter paper, an unglazed pottery and the immersion method.

The slant agar is very easy to handle, and on which the eggs are not influenced by bacilli and mold owing to sterilization. In addition to these advantages, oxygen and wetness which are necessary to the growth of the eggs are kept adequately.

When the eggs are cultured on the slant agar for 5 days at 30°C, 90% of them develops to a morula stage, and 7 days later all of the eggs reaches to a larval stage. On the other hand, if they are cultured by filter paper method, the eggs are found to reach a tadpole stage on the 7th day, and 10 days later 80% of them reaches to a larval stage. When an unglazed pottery is used, more than 80% of the eggs takes about 20 days to reach a larval stage.

When tap water is used in the culture of the immersion method, 80% of the eggs reaches to a larval stage after 30 days because they become to sporadic in their growth stage.

Formalin water, within the limits from 0.5 to 4.0% of which, no difference of the eggs in the growth is found among these concentrations. Generally speaking, formalin water is more sufficient for the eggs than tap water only.